



TITLE:

生體觸媒に関する研究(第6報) 植物の含亜鉛酵素

AUTHOR(S):

近藤, 金助; 森, 茂樹; 河合, 文雄

CITATION:

近藤, 金助 ...[et al]. 生體觸媒に関する研究(第6報) 植物の含亜鉛酵素. 京都大学化研講演集 1949, 18: 33-34

ISSUE DATE:

1949-07-05

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/73955>

RIGHT:

生體觸媒に關する研究(第6報)

植物の含亞鉛酵素

Studies on Bio-Catalyses. VI

On the Zinc Containing Enzyme of Plants

近藤金助・森 茂樹・河合文雄

Kinsuke Kondo, Shigeki Mori and Fumio Kawai

生體亞鉛觸媒として動物體內(胰臟)に Insulin が生産されることは周知のことである。近年更に血液及びその他の臓器より脱炭酸酵素として分離せられた Carbonic anhydrase は含亞鉛酵素であることが明かにされた。偲て植物體に Zn が含まれて居ることは相當古くより知られて居る事實であるが、その生體觸媒的意義は今猶未解決のままのこされて居る。

筆者等は數年來植物に於ける Zn の生體的意義を明かにせんとして先づ諸種の植物體に於ける Zn の分布を明かにしその結果は一部既に發表した¹⁾。

その結果によれば葉菜等に於ては綠色濃厚なる部分に、又綠色濃厚ならざるも幼芽或は蕾等の新生組織には Zn の含有量が特に大であることを確めた。よつて比較的多量の Zn を含む筈について亞鉛酵素の分離を試みた。その結果についても既に報告した²⁾ところである。

偲て植物に於ける亞鉛酵素の機能に關する見解は今のところ確定的でないが、動物に於ける Carbonic anhydrase の如く炭酸排泄或は逆に炭酸還元に關與するものとの豫想の下に重炭酸鹽溶液を基質として、これに對する分解力を酵素活度の指標とし、酵素の分離精製を試みたわけである。

先に本研究室に於て數種の葉菜に就て綠色濃厚なる葉片部と淡綠又は白色の葉柄部の汁液について實驗を試みた結果³⁾、Zn 含量の高い葉片部に於ける脱炭酸力は Zn 含量の低い葉柄部より著しく強力であることを確めた。蓋し葉片部には葉綠體が濃厚に集積し光合成は主としてこの部分に於て行われる。亞鉛酵素は葉綠體成分と緊密な關聯をもち、これをとり圍む酵素部と協同的作業を營むものであると考えられるが、これらの酵素群より特定の酵素をその活性を保持するままの状態に於て分離、精製することは極めて困難である。即ちそれは不純物を除去するための操作の繁雜さばかりでなく、操作の途中に起る目的物の急速なる變質を防止することが困難であるからである。

筆者等は次の如き方法により含亞鉛酵素の分離、精製にほぼ成功するを得た。その結果を報告する次第である。尙實驗材料は大根(Raphanus sativus var. macropodus) 葉で5~7月の期間隨時採取した。酵素活度の測定方法は重炭酸鹽溶液を基質として發生する炭酸ガスを檢壓

法により、一定壓に達する時間を計測し Meldrum & Roughton の式を適用して活度を算出した。

次に亜鉛酵素の分離方法を述べよう。大根葉一定量に同量の水を加え氷冷しつつ搗碎し、その搾汁(I)に $\frac{1}{2}$ M 磷酸鹽緩衝液を加え氷冷しつつ pH 5.5 となし、暫時放置後遠心分離し、その上澄液(II)に珪藻土を加え再び遠心分離し、黄緑色透明なる上澄液(III)に $\frac{1}{2}$ M 磷酸曹達を加え pH 6.8 となし、アルミナを加え数時間放置後更に遠心分離した。この場合目的の酵素はアルミナに完全に吸着したが同時に銅及鐵酵素も之に吸着する。従つて次の溶出を慎重にして適度に行うと鐵及銅を含み酸化酵素に富む溶出液(V)が得られるが、亜鉛酵素の殆んど全部はその残渣に残留する。この残渣に磷酸鹽溶液を加えて pH 7.2 に調整して溶出すると Zn に就て濃度の高い溶出液(III)が得られる。而してこの液に含まれる銅は痕跡に過ぎない。以上の方法によつて分別した各區分より一定量を探り N 及 Zn を定量し同時に活度を計測した。その結果は第1表に示す通りである。

第 1 表

區分番號	分 別 區 分	N mg/cc. (a)	蛋 白 (a)×5.71* mg/cc.	Zn r/cc.	蛋白中 Zn %	蛋白1mg 當り活度
(I)	壓 搾 汁 液	1.512	8.633	1.20	0.014	1.1
(II)	(I) の遠心分離上澄液	0.492	2.809	0.43	0.015	2.4
(III)	珪藻土吸着後 遠心分離上澄液	0.226	1.291	0.52	0.040	5.4
(IV)	第2回アルミナ溶出液	0.010	0.057	0.11	0.193#	80.0
(V)	第1回アルミナ溶出液	0.013	0.074	0	—	—

* N 係數 5.71 は Osborne の調製せる Glycinin N 17.53 % を適用した、

Keilin 等が血球より分離せる Carbonic anhydrase の Zn 含量は 0.31~0.33%

以上の實驗によつて植物の脱炭酸酵素の本體は含亜鉛酵素であることを大略確認した。表出の Zn 含量は相當高く血液より分離された Carbonic anhydrase に於ける含量の $\frac{1}{2}$ 以上に達して居る。それにも拘らずその活度は豫期に反して甚だ弱い。その原因はこの酵素自體の特性によるものか、分離操作中に起る變質に因るか、或は酵素に對する基質又は反應條件が適正でないためか明かでないが、更に精製を進めることにより亜鉛含量及酵素活度も高め得る餘地があると考えられるので目下純化に力めて居る。

文 献

- 1) 近藤・森：本誌 17 78, 80 (1948)
- 2) 近藤・森：農藝化學會近畿支部會第55回(1948年1月)にて發表
- 3) 近藤・米澤・千葉：同上 第58回(1948年4月)にて發表

(昭和 24 年 2 月 28 日 受 理)